

29.Mn-SOD遺伝子導入によるマウス癌細胞悪性化進展の抑制(一般講演)(東日本歯学会第14回学術大会(平成8年度総会))

著者名(日)	中井 一元, 柴田 敏之, 加藤 元康, 中田 大地, 永易 裕樹, 有末 眞
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	15
号	1
ページ	52
発行年	1996-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00008144/

28. HL60を用いた細胞死に関する検討

福田 恵, 細川洋一郎¹⁾, 御園 雅昭¹⁾,
安彦 善裕²⁾, 賀来 亨²⁾
(歯科放射線学講座¹⁾, 口腔病理学講座²⁾)

生物に対する放射線作用には、放射線による電離が直接高分子に作用する直接作用と、水に対する放射線作用が化学反応が起こし、その生成物であるフリーラジカルが生体高分子に間接的に障害を与える間接作用とがある。いずれもDNAに対し修復不能障害を生じさせた場合細胞を死に至らしめるが、電磁線における生物作用の大部分は間接作用によるとされている。今回演者らは、ヒト前骨髄白血病由来細胞のHL60を用い、フリーラジカル消去剤を添加しX線照射を行った場合と、消去剤を添加せず照射を行った場合における細胞死について検討を行った。

方法：(消去剤と照射方法)フリーラジカル消去剤としてアスコルビン酸を $10^{-4}M$ で用い、線量率 $16Gy/h$ で $20Gy$ のX線照射を行った。

①コントロール、アスコルビン酸添加、照射の3群についてDNA断片化の測定を行った。

②コントロール、アスコルビン酸添加、照射、アスコルビン酸添加+照射の4群について細胞生存率を測定した。

結果, 考察：①照射群はDNA断片化が最も大きかった。また、コントロールとアスコルビン酸添加とでは断片化に有意差がなかったことからアスコルビン酸は細胞に対して毒性がないことが分かった。②コントロール、アスコルビン酸添加、アスコルビン酸添加+照射群の3群の細胞生存率に有意差はなく、アスコルビン酸添加+照射群は照射群に比較し、有意に生存率が高かった。これらから、アスコルビン酸添加により照射線誘発をフリーラジカルを消去した場合、細胞死を減少させることが分かった。しかしながら、これらは、核DNAに対する間接作用緩和の有無については不明なため、それらは今後、検索する予定である。

29. Mn-SOD遺伝子導入によるマウス癌細胞悪性化進展の抑制

○中井 一元, 柴田 敏之, 加藤 元康,
中田 大地, 永易 裕樹, 有末 眞
(口腔外科学第二講座)

C57BL/6マウス線維肉腫BMT-11より得られた癌細胞(QR癌細胞)は、活性酸素によって悪性化進展することが示唆されている。また、QR癌細胞の中には、活性酸素によって高率に悪性化するQR-32とわずかししか悪性化しないQR-29が存在し、この原因として細胞内抗酸化酵素が関与している可能性が示されて来ている。そこで、今回、細胞内Manganese superoxide dismutase (Mn-SOD)と癌細胞の悪性化との関係を明らかにするために、QR-32にrat Mn-SOD cDNAを導入しMn-SODを過剰発現させQR-32癌細胞の悪性化進展を検討した。rat Mn-SODA cDNAを発現ベクターpDGLに組み込みlipofectionの後、一次抗体にrabbit anti-rat Mn-SOD

IgG、二次抗体にgoat antirabbit IgGを用いたWestern blotting法にてMn-SODの発現を確認したところ、Mn-SOD高発現クローンQR-32tSODcl-23, QR-32, QR-32tSODcl-24を得た。親株であるQR-32、ベクターのみ導入したQR-32neo, Mn-SOD高発現クローンをゼラチンスポンジと同時皮下移植してその増殖を観察した。親株QR-32、ベクターコントロールQR-32neoは10例中6例のマウスで致死増殖を示すのに対し、Mn-SOD高発現クローンQR-32tSODcl-23, QR-32tSODcl-24では、10例中2例でのみ致死増殖を示し、以上から、QR-32癌細胞の悪性化進展には細胞内Mn-SODが関与していることが示された。